

Stigmast-5(6)-en-3 β -ol dari Herba Tumbuhan Krokot (*Lygodium microphyllum*)

Hadi Kuncoro^{1,2}, Kindi Farabi¹, Euis Julaeah¹, Laode Rijai², Unang Supratman¹

¹Departemen Kimia, FMIPA Universitas Padjadjaran, Jatinangor 45363, Sumedang, Jawa Barat, Indonesia.

²Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian FARMAKA TROPIS, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda 75119, Kalimantan Timur, Indonesia.

E-mail: u_supratman@unpad.ac.id

Received: January 2015; Revised: February 2015; Accepted: May 2015; Available Online: August 2016

Abstrak

Suatu senyawa steroid, stigma-5(6)-en-3 β -ol atau β -sitosterol (**1**) telah diisolasi dari ekstrak *n*-heksana herba tumbuhan krokot (*Lygodium microphyllum*). Struktur kimia senyawa **1** diidentifikasi berdasarkan data-data spektroskopi dan perbandingan data spektra yang diperoleh dari literatur. Penemuan senyawa steroid, stigma-5(6)-en-3 β -ol pada tumbuhan *L. microphyllum* pertama kali dilaporkan pada penelitian ini.

Kata Kunci: *Lygodium microphyllum*, stigma-5(6)-en-3 β -ol, *Lygodiaceae*.

Abstract

A steroid, stigma-5(6)-en-3 β -ol or β -sitosterol (**1**) had been isolated from a *n*-hexane extract of the Krokot plant herb (*Lygodium microphyllum*). The chemical structure of **1** was identified on the basis of spectroscopic evidences and by comparison with those of spectra data previously reported. The investigation of steroid, stigma-5(6)-en-3 β -ol was from *L. microphyllum* plant was reported in this research for first time.

Keywords: *Lygodium microphyllum*, stigma-5(6)-en-3 β -ol, *Lygodiaceae*.

DOI : <http://dx.doi.org/10.15408/jkv.v0i0.3152>.

1. PENDAHULUAN

Tumbuhan paku telah bertahan sejak zaman Paleozoikum dan dapat beradaptasi dengan berbagai perubahan lingkungan (Wallace *et al.*, 1991), sehingga tumbuhan paku memiliki banyak metabolit sekunder yang bermanfaat, antara lain flavonoid, steroid, alkaloid, fenol, triterpenoid, dan berbagai jenis asam amino serta asam lemak (Zeng-fu *et al.*, 2008). Salah satu dari ribuan jenis tumbuhan paku yang memiliki manfaat farmakologis yang menarik adalah famili *Lygodiaceae*. Satu-satunya genus dari famili *Lygodiaceae* adalah genus *Lygodium* (Guo-gang *et al.*, 2012). Secara umum genus *Lygodium* merupakan kelompok paku yang menjalar dan selalu merambat pada tumbuhan lain. Genus ini sangat berbeda dari jenis paku lainnya karena

mempunyai akar rimpang yang menjalar di tanah dan berdaging serta hanya dapat hidup di tempat yang terbuka karena menyukai sinar matahari.

Beberapa tumbuhan genus *Lygodium* bersifat invasif dan telah menjadi masalah di sejumlah kawasan hutan. Sifatnya yang tumbuh cepat dan minim predator membuat tanaman ini mendominasi, menggusur satwa liar, mengancam biodiversitas, dan meningkatkan konflik manusia dan satwa (Susanto, 2012). Salah satu spesies genus *Lygodium* yang bersifat invasif adalah *L. microphyllum*. Tumbuhan genus ini memiliki berbagai khasiat yang telah dikenal secara luas, sehingga pemanfaatan tumbuhan genus ini sangat diharapkan. Beberapa tumbuhan *Lygodium* banyak digunakan oleh masyarakat salah satunya sebagai obat

tradisional sebagai obat hepatitis (Zheng dan Xing, 2009), obat sakit pinggang, rematik dan mengatasi batu empedu (Lee *et al.*, 2008), ekspektoran, obat rematik, terkiler, kudis, eksim, dan kelainan hati (Upreti *et al.*, 2009), diuretik, antiplasmodial, rematik, dan pengobatan penyakit paru-paru dan ginjal (Upreti *et al.*, 2009), diuretik, obat pencahar, penghangat tubuh, sakit kepala, kelainan pencernaan dan hepatitis (Zheng dan Xing, 2009), obat pereda sakit saat menstruasi, pencernaan, kontrasepsi, penyembuhan patah tulang, dan pengobatan ambeien (Cambie dan Ash, 1994) dan meredakan batuk (Karthik, 2011). Studi fitokimia pada genus *Lygodium* telah dilaporkan mengandung senyawa dengan struktur yang khas dan aktivitas biologi yang beraneka ragam seperti flavonoid (Zhang *et al.*, 2006), fenolik glikosida (Ye *et al.*, 2007), naftakuinon (Chen *et al.*, 2010), ekdisterosida (Zhu *et al.*, 2009), dan fenil propanoid glikosida (Duan *et al.*, 2012).

Tumbuhan Krokot (*L. Microphyllum*), berdasarkan informasi etnobotani dan etno farmakologis banyak memberikan manfaat dalam bidang kesehatan serta pola reproduksinya yang sederhana menjadikan tanaman ini tergolong tanaman herbal yang mudah diperoleh, sehingga pemanfaatan tanaman ini diperlukan terutama untuk mengetahui kandungan kimia dari tumbuhan ini. Dalam penelitian berkelanjutan kami untuk mencari senyawa baru dari tumbuhan *Lygodium* Indonesia, telah diteliti kandungan kimia tumbuhan *Lygodium* yang tumbuh di Kalimantan. Pada komunikasi ini, kami akan melaporkan senyawa stroid, stigmast-5(6)-en-3 β -ol (Gambar 1) dari ekstrak *n*-heksana herba tumbuhan Krokot (*L. microphyllum*).

2. METODE PENELITIAN

Umum

Titik leleh diukur pada peralatan titik leleh elektrotermal dan tidak terkoreksi. Spektra IR diukur pada spektrofotometer Perkin-Elmer 1760X FT-IR pada KBr. Spektra massa dicatat dengan spektrometer massa Water, Qtof HR-MS XEVtm. Spektra ¹H dan ¹³C NMR diperoleh dengan spektrometer JEOL JNM A-500 menggunakan TMS sebagai internal standard. Pemisahan kromatografi dilakukan pada silika gel 60 (Merck), ODS (Fuji silysia). Plat TLC

diisi dengan silika gel GF254 (Merck, 0.25 mm) dan deteksi diperoleh dengan penampakkan 10% H₂SO₄ dalam etanol dan diikuti dengan pemanasan serta dibawah sinar ultra violet-visibel pada panjang gelombang 257 dan 364 nm.

Bahan Tumbuhan

Bahan tumbuhan berupa herba tumbuhan Krokot (*L. microphyllum*) diperoleh dari kawasan hutan di Samarinda, Kalimantan Timur pada bulan Juni, 2013. Tumbuhan tersebut diidentifikasi oleh staff pada Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman, Samarinda dan contoh spesimen tersimpan di Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman, Samarinda.

Ekstraksi dan Isolasi

Serbuk kering herba *L. microphyllum* (3.54 kg) diekstraksi dengan metanol pada temperatur kamar. Ekstrak metanol yang diperoleh dipisahkan pada tekanan rendah sehingga dihasilkan ekstrak pekat metanol berwarna coklat tua (526 g). Ekstrak pekat metanol selanjutnya dilarutkan di dalam air (4:1) dan dipartisi berturut-turut dengan *n*-heksana, etil asetat dan *n*-butanol. Penguapan pelarut dari masing-masing ekstrak dihasilkan berturut-turut ekstrak *n*-heksana (59 g), etil asetat (72 g) dan *n*-butanol (54 g). Sebagian dari ekstrak *n*-heksana (50 g) dipisahkan pada kromatografi cair vakum (KCV) pada silika gel G60 dengan pelarut *n*-heksana-etil asetat-metanol, 10% kepolaran meningkat dihasilkan 25 fraksi (H01-25). Fraksi H10-16, digabung (4.6 g) dipisahkan pada kromatografi kolom pada silika gel (70-230 mesh) dengan eluen *n*-heksana-etil asetat, 5% kepolaran meningkat dihasilkan 25 fraksi (I01-25). Fraksi I012-17 digabung (230 mg) dipisahkan pada kromatografi lapis tipis preparatif pada silika gel GF₂₅₄ dengan eluen kloroform:etil asetat:asam asetat (9:1:0,5) sehingga dihasilkan padatan putih sebanyak 40.6 mg yang selanjutnya dikristalisasi dengan *n*-heksana-etil asetat dihasilkan kristal putih tak berwarna (38 mg).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak metanol dari herba tumbuhan Krokot (*L. microphyllum*) dipisahkan dan dipartisi berturut-turut dengan *n*-heksana, etil asetat dan *n*-butanol. Sebagian dari ekstrak *n*-

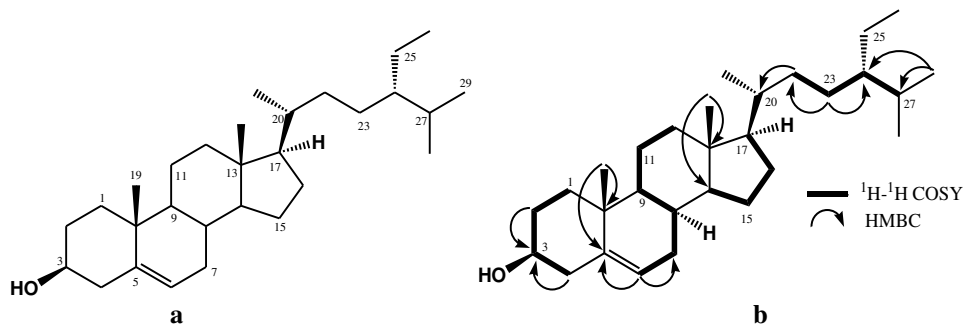
heksana dipisahkan senyawa-senyawa dengan berbagai teknik kromatografi pada fasa diam Stigmast-5(6)-en-3 β -ol yang dihasilkannya berupa kristal jarum putih; titik leleh 134-136 °C. IR (KBr) ν_{maks} 3440, 2934, 2890, 1640, 1190 cm^{-1} . ^1H NMR (aseton- d_6 , 500 MHz),

silika gel sehingga dihasilkan senyawa steroid (Gambar 1a).

lihat Tabel 1; ^{13}C NMR (aseton- d_6 , 125 MHz), lihat Tabel 1. TOF MS (*mode ion negatif*) [m/z 413.0911, perhitungan untuk $\text{C}_{28}\text{H}_{50}\text{O}$ m/z 414.0818.

Tabel 1. Data NMR senyawa steroid

PosisiC	^{13}C -NMR δ_{C} (ppm, mult.)	^1H -NMR δ_{H} (ppm) (ΣH , mult., $J = \text{Hz}$)
1	37.4 (t)	1.06 (1H, dd, 10.5; 5.5) 1.11 (1H, dd, 10.5; 9.5)
2	31.7 (t)	1.69 (1H, dt, 9.5; 6.0) 1.77 (1H, dt, 9.0; 6.0)
3	70.9 (d)	3.39 (1H, m)
4	42.5 (t)	2.21 (2H, d, 6.5)
5	141.5 (s)	-
6	120.7 (d)	5.31 (1H, d, 5.6)
7	31.8 (t)	1.94 (2H, dt, 5.6; 8.5)
8	36.2 (d)	1.42 (1H, m)
9	50.4 (d)	0.95 (1H, m)
10	36.5 (s)	-
11	20.9 (t)	1.55 (2H, m)
12	39.8 (t)	1.19 (2H, d, 5.6)
13	42.2 (s)	-
14	56.8 (d)	1.13 (1H, m)
15	25.9 (t)	1.23 (2H, m)
16	28.1 (t)	1.95 (2H, m)
17	56.1 (d)	1.15 (1H, m)
18	11.5 (q)	0.74 (3H, s)
19	18.4 (q)	1.02 (3H, s)
20	40.5 (d)	1.22 (1H, m)
21	19.3 (q)	0.86 (3H, d, 6.1)
22	33.9 (t)	2.05 (2H, m)
23	24.1 (t)	1.6 (2H, m)
24	45.9 (d)	0.97 (1H, m)
25	31.9 (d)	1.15 (1H, m)
26	18.9 (q)	0.84 (3H, d, 6.2)
27	18.5 (q)	0.96 (3H, d, 6.7)
28	22.9 (t)	1.27 (2H, m)
29	11.4 (q)	0.88 (3H, t, 1.89)



Gambar 1. Struktur kimia senyawa steroid (1) dan Korelasi COSY dan HMBC terpilih senyawa steroid (2)

Senyawa steroid yang diperoleh berupa kristal putih tak berwarna dengan titik leleh 134-136 °C dan larut sempurna dalam aseton. Rumus molekul senyawa steroid ditetapkan sebagai $C_{29}H_{50}O$ berdasarkan spektrum HR-TOFMS (*negatifionmode*) m/z 413.0911, perhitungan untuk $C_{29}H_{50}O$ m/z 414.0818 bersama data NMR (Tabel 1), dengan demikian diperlukan lima derajat ketidakjenuhan. Senyawa steroid tidak berpendar di bawah sinar ultra violet pada panjang gelombang 254 dan 360 nm, mengindikasikan tidak adanya ikatan rangkap terkonyugasi. Serapan inframerah yang disebabkan oleh gugus hidroksil, ikatan rangkap dua dan eter diamati pada 3440, 2934, 2890, 1640, 1190 cm^{-1} . Spektrum 1H NMR senyawa 1a menyatakan adanya sinyal proton olefinik δ_H 5.31 (1H, d, $J=4.9$ Hz), enam sinyal proton metil yang terdiri atas dua metil tersier pada δ_H 0.74 (3H, s) dan 1.02 (3H, s), empat metil sekunder pada δ_H 0.84 (3H, d, $J=6.2$ Hz), 0.86 (3H, d, $J=6.1$ Hz), 0.88 (3H, t, $J=1.89$ Hz) dan 0.96 (3H, d, $J=6.7$ Hz) dan satu sinyal metin sp^3 teroksigenasi pada 3.39 (1H, m). Total duapuluh sembilan sinyal karbon diamati pada spektrum ^{13}C NMR. Sinyal-sinyal tersebut diperinci dengan percobaan DEPT dan HMQC sebagai dua karbon sp^2 (δ_C 120.7 dan 141.5), enam metil, sebelas metilen sp^3 , tujuh metin sp^3 , satu metin teroksigenasi pada δ_C 70.9 dan dua karbon sp^3 kuarternar. Fungsionalitas ini dihitung sebagai satu dari total lima derajat ketidakjenuhan. Empat derajat ketidakjenuhan yang tersisa sesuai dengan kerangka steroid stigmastan tetrasiklik. Struktur kimia senyawa steroid lebih lanjut dideduksi dari spektra 1H - 1H COSY dan HMBC (Gambar 1b).

Spektrum 1H - 1H COSY senyawa steroid menunjukkan korelasi pada C_1 - C_2 - C_3 - C_4 , C_5 - C_7 - C_8 - C_9 - C_{11} - C_{12} , dan C_{15} - C_{16} - C_{17} , mendukung adanya kerangka steroid stigmastan pada senyawasteroid. Pada spektrum HMBC, korelasi yang muncul dari proton metil tersier terhadap karbon tetangganya, menetapkan posisi dua metil tersier pada C-10 dan C-13, sedangkan metil sekunder lainnya ditetapkan sesuai dengan biogenesis terbentuknya kerangka stigmastan. Proton olefinik pada δ_H 5.31 berkorelasi dengan C-5 (δ_C 141.5), C-7 (δ_C 31.8) dan C-10 (δ_C 36.5), sedangkan proton metilen pada δ_H 2.21 berkorelasi dengan C-5 (δ_C 141.5) dan C-6 (δ_C 120.7), menyarankan

posisi ikatan rang dua terletak pada C_{5-6} ($\Delta^{5,6}$). Proton teroksigenasi pada δ_H 3.39 berkorelasi dengan C-2 (31.7), C-4 (δ_C 42.5), sedangkan proton metilena pada δ_H 1.69 (H-2) dan 42.5 (H-4) berkorelasi dengan C-3 (δ_C 70.9), menyarankan posisi gugus hidroksil terletak pada C-3. Stereokimia gugus hidroksil pada C-3 ditetapkan berdasarkan tetapan penjodohan visinal proton antara H_{2-3} (2.3J) sebesar 6.7 Hz dan pendekatan biogenesis keberadaan senyawa stigmastan pada jaringan tumbuhan, dengan demikian ditetapkan sebagai 3β -ol. Perbandingan data fisik dan fisikokimia senyawa steroid dengan stigmast-5(6)-en- 3β -ol (Chaturvedula dan Prakash, 2012) menunjukkan kesesuaian yang sangat tinggi, dengan demikian senyawa steroid diidentifikasi sebagai stigmast-5(6)-en- 3β -ol atau β -sitosterol. Penemuan senyawa β -sitosterol pada tumbuhan *L. Microphyllum* baru pertama dilaporkan pada penelitian ini sehingga memberikan petunjuk fitokimia adanya senyawa steroid pada genus *Lygodium*.

4. SIMPULAN

Senyawa stigma-5(6)-en- 3β -ol atau β -sitosterol telah diisolasi dari ekstrak *n*-heksana herba tumbuhan *L. microphyllum*. Penemuan senyawa steroid, stigma-5(6)-en- 3β -ol pada tumbuhan *L. microphyllum* pertama kali dilaporkan pada penelitian ini dan memberikan petunjuk fitokimia terhadap kandungan steroid pada genus *Lygodium*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, Indonesia atas dana Penelitian Hibah Pascasarja. Terima kasih kepada Dr. Laode Rijai, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, atas pengumpulan dan identifikasi sampel tumbuhan. Terima kasih kami ucapkan juga kepada Ahmad Darmawan, m.si dan Sofa Fajriah, M.Si di Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Serpong, Tangerang atas pengukuran NMR serta Uji Pratomo di Laboratorium Bersama Universitas Padjadjaran atas pengukuran HR- TOFMS.

DAFTAR PUSTAKA

- Cambie RC, Ash J. 1994. Fijian Medicinal Plants. CSIRO. Melbourne.
- Chaturvedula VSR, Prakash I. 2012. Isolation of stigmasterol and β -sitosterol from the dichloromethane extract of *Rubus suavissimus*. *International Current Pharmaceutical Journal*. 1(9): 239-242.
- Chen L, Zhang G, He J, Jin Guan J, Pan C, Mi W, Wang Q. 2010. New naphthoquinone from the root of *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. *Journal of Natural Medicine*. 64: 114–116.
- Duan Y, Dai HYR, Kurihara H, Li Y, Yao X. 2012. A new phenylpropanoid glucoside from the aerial parts of *Lygodium japonicum*. *Journal of Asian Natural Products Research*. 14(3): 286–292.
- Guo-Gang Z, Ying-Cui H, Hong-Xia L, Lin-Xia Z, Li-Juan C. 2012. *The Research of Lygodium*. Intechopen. Shanghai.
- Karthik V, Raju K, Ayyanar M, Gowrishankar K, Sekar T. 2011. Ethnomedicinal uses of pteridophytes in Kolli Hills, Eastern Ghats of Tamil Nadu, India. *Journal of Natural Products Plant Resources*.
- Lee S, Xiao C, Pei S. 2008. Ethnobotanical survey of medicinal plants at periodic markets of Honghe Prefecture in Yunnan Province, China. *Journal of Ethnopharmacology*. 117: 362–377.
- Upreti K, Jalal JS, Tewari LM, Joshi GC, Pangtey YPS, Tewari G. 2009. Ethnomedicinal uses of Pteridophytes of Kumaun Himalaya, Uttarakhand, India. *Journal of American Science*. 5: 167–170.
- Wallace RA, Sander GP, Ferl RJ. 1991. *Biology: The Science of Life*. New York (USA): Harper Collins.
- Ye W, Fan C, Zhang L, Yin Z, Zhao S. 2007. A new phenolic glycoside from the roots of *Lygodium japonicum*. *Fitoterapia*. 78: 600–601.
- Zeng-fu LI., Huil H, Hang-yi Z, Jun-chen Z. 2008. Review on the extraction of flavonoids from fern. *Journal of San University*. 25: 22.
- Zhang L, Yin Z, Ye W. 2006. Flavonoids from *Lygodium japonicum*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 34: 885-886.
- Zheng XL, Xing FW. 2009. Ethnobotanical study on medicinal plants around Mt. Yinggeling, Hainan Island, China. *Journal of Ethnopharmacology*. 124: 197–210.
- Zhu L, Zhang G, Chen L, Wang S, Li P, Li L. 2009. A new ecdysteroid from *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. *Journal of Natural Medicinal*. 63 p. 215–219.